



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **RESPOSTA INFLAMATÓRIA À DIABETES MELLITUS**

Trabalho submetido por  
**Carolina Barreto Coelho Pires Eusébio**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**novembro de 2016**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **RESPOSTA INFLAMATÓRIA À DIABETES MELLITUS**

Trabalho submetido por  
**Carolina Barreto Coelho Pires Eusébio**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Professor Doutor José Brito**

novembro de 2016



## **Agradecimentos**

Quero agradecer a todos aqueles que me acompanharam ao longo destes cinco anos, aos meus pais, ao meu irmão e aos meus avós por todo o apoio e motivação que me deram ao longo de toda a minha vida pessoal e académica. Ao meu namorado pela paciência e incentivo.

Um agradecimento especial ao meu orientador, o Professor Doutor José Brito, por toda a disponibilidade que demonstrou ao longo deste processo e também à Professora Tânia Fernandes pela simpatia e disponibilidade demonstrada.

Carolina Eusébio



## **Resumo**

A Diabetes mellitus é atualmente um dos maiores problemas de saúde mundiais e a sua contínua expansão está associada à morbidade e mortalidade, a uma menor qualidade de vida e a grandes custos de saúde. Caracteriza-se por vários graus de resistência à insulina e pela disfunção das células  $\beta$  do pâncreas, acabando por levar a uma hiperglicemia. Divide-se em dois grandes grupos: Tipo 1 e Tipo 2.

A ligação entre a Inflamação e a Diabetes mellitus, que vai ser objeto de análise nesta monografia, é assinalada por um desequilíbrio dos níveis de certas citocinas, quimiocinas e interleucinas. Esses níveis provocam uma resposta inflamatória e imune que medeia a patogénese da diabetes.

Quanto a esta temática, importa salientar que um dos fatores de risco major da DMT2 é a obesidade que está associada a uma resposta inflamatória crónica, caracterizada por uma produção anormal de adipocinas e ativação de certas vias de sinalização pró-inflamatórias, resultando na indução de vários marcadores de inflamação biológicos.

Atualmente, e embora ainda não exista um consenso no mecanismo da resposta inflamatória desta doença, a identificação dos seus marcadores reveste-se de particular importância para auxiliar na sua deteção precoce e na antecipação da ocorrência de possíveis complicações. Os marcadores que iremos analisar com maior detalhe são: Proteína C Reativa, TNF- $\alpha$ , Adiponectina, IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 e MCP-1.

Esta monografia tem como objetivo estudar os marcadores de inflamação presentes na Diabetes mellitus anteriormente referidos e avaliar o seu comportamento no processo inflamatório desta doença.

**Palavras-Chave:** Diabetes Mellitus, Resposta Inflamatória, Inflamação e Marcadores Inflamatórios.





## **Abstract**

Diabetes mellitus is currently one of the largest health problems in the world and its continued expansion is associated with morbidity and mortality, lower quality of life and greater health costs. It is characterized by various degrees of insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction of the pancreas, eventually leading to hyperglycemia. It is divided into two major groups: Type 1 and Type 2.

The link between Inflammation and Diabetes mellitus, which will be analyzed in this monograph, is signaled by an imbalance of the levels of certain cytokines, chemokines and interleukins. These levels elicit an inflammatory and immune response that mediates the pathogenesis of diabetes.

Regarding this theme, it should be noted that one of the major risk factors for DM2 is obesity, which is associated with a chronic inflammatory response, characterized by abnormal adipokine production and activation of certain proinflammatory signaling pathways, resulting in the induction of several inflammatory markers.

Currently, and although there is still no agreement on the mechanism of inflammatory response of this disease, the identification of its markers is of particular importance to assist in its early detection and anticipation of the occurrence of possible complications. The markers that we will analyze in more detail are: C-reactive protein, TNF- $\alpha$ , Adiponectin, IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 and MCP-1.

This monograph aims to study the inflammation markers present in Diabetes mellitus and to evaluate their behavior in the inflammatory process of this disease.

**KeyWords:** Diabetes Mellitus, Inflammatory Response, Inflammation and Inflammatory Markers.



## **Índice Geral**

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1. Aspectos Gerais da Diabetes Mellitus.....	11
1.2. Inflamação e Diabetes Mellitus.....	16
<b>2. A DIABETES MELLITUS COMO UMA DOENÇA INFLAMATÓRIA.....</b>	<b>19</b>
<b>3. MARCADORES INFLAMATÓRIOS.....</b>	<b>23</b>
3.1. Proteína C Reativa.....	23
3.2. TNF- $\alpha$ .....	26
3.3. Adiponectina.....	29
3.4. IL-1.....	31
3.5. IL-2.....	35
3.6. IL-6.....	37
3.7. IL-10.....	40
3.8. MCP-1.....	42
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>



## **Índice de Figuras**

Figura 1: A prevalência da DM por faixas etárias, em Portugal e na Europa.....	12
Figura 2: A relação entre marcadores inflamatórios e a disfunção endotelial.....	21
Figura 3: O papel da IL-1 $\beta$ na resposta inflamatória.....	32
Figura 4: Os efeitos metabólicos da IL-6.....	37
Figura 5: Papel proposto para a expressão de MCP-1 numa fase inicial de insulite.....	43



## **Lista de Abreviaturas**

AMP - Adenosina monofosfato

CRP - Proteína C reativa

CVD - Doença cardiovascular

DG - Diabetes gestacional

DM - Diabetes mellitus

DMT1 - Diabetes mellitus Tipo 1

DMT2 - Diabetes mellitus Tipo 2

GLUT-4 - Transportador de glucose tipo 4

HbA<sub>1c</sub> - Hemoglobina glicada

HDL - Lipoproteína de alta densidade

hsCRP - Proteína C reativa de alta sensibilidade

ICAM-1 - Molécula de adesão intercelular

IL - Interleucina

INF - Interferão

IRS - Substratos do recetor de insulina

JNK - Quinase C-jun N-terminal

LDL - Lipoproteína de baixa densidade

LPS - Lipopolissacarídeo

MAPK - Proteína quinase ativada por mitogénio

MCP-1 - Proteína quimiotática de monócitos

NEFAs - Ácidos gordos não esterificados

NF-kB - Fator nuclear kappa B

NLRP3 - Domínio 3 do recetor do tipo Nod

PPAR - Recetores ativados por proliferador de peroxissoma

RE - Retículo endoplasmático

SOCS - Supressores de sinalização de citocinas

TNF - Fator de necrose tumoral

VLDL - Lipoproteína de muito baixa densidade



## **1. Introdução**

### **1.1. Aspetos Gerais da Diabetes Mellitus**

A Diabetes mellitus (adiante designada por DM) classifica-se atualmente como uma desregulação no metabolismo da glucose que resulta numa má secreção de insulina ou numa diminuição da sensibilidade à insulina, ou na combinação destes dois processos metabólicos, o que provoca uma hiperglicemia crónica e diversas complicações (Canivell & Gomis, 2014). É um espectro de distúrbios/doenças caracterizadas por vários graus de resistência à insulina e pela disfunção das células  $\beta$  do pâncreas. Fatores que modifiquem uma ou ambas as características referidas anteriormente acabam por levar à hiperglicemia e parecem ter ações independentes (Zaccardi, Webb, Yates, & Davies, 2015). Esta doença pode dividir-se em dois grandes grupos : Tipo 1 e Tipo 2. Existe ainda um terceiro grupo denominado "Outros Tipos Específicos de Diabetes" que engloba formas da DM mais raras, incluindo a Diabetes gestacional (adiante designada por DG) (Canivell & Gomis, 2014).

É um dos maiores problemas de saúde mundiais onde a sua contínua expansão está associada à morbilidade e mortalidade, uma menor qualidade de vida e a grandes custos de saúde (He et al., 2015).

A Diabetes mellitus Tipo 1 (adiante designada por DMT1), ou diabetes insulínodépendente, é um distúrbio autoimune que leva à destruição das células  $\beta$  do pâncreas, levando a uma deficiência total, ou quase total, de insulina (Blair, 2016). Tal como muitas outras doenças imuno-mediadas, a DMT1 mostra heterogeneidade em termos do seu aparecimento, da gravidade da resposta autoimune e da eficácia da terapêutica (Zaccardi et al., 2015).

A Diabetes mellitus Tipo 2 (adiante designada por DMT2), que é bastante mais comum, é o resultado da combinação da ação da resistência à insulina e de uma resposta inadequada de compensação na secreção de insulina (Canivell & Gomis, 2014). Uma diminuição na captação de glucose por estimulação de insulina (resistência à insulina) está associada a obesidade, idade e sedentarismo (Blair, 2016).

Em 2015, segundo a *International Diabetes Federation* (2016), a Diabetes mellitus afetou cerca de 415 milhões de pessoas em todo o mundo. Isto quer dizer que um em cada onze adultos convive com DM. No mesmo ano registou-se cerca de 1 milhão de casos de DM em Portugal, o que representa cerca de 13,6% da população portuguesa.

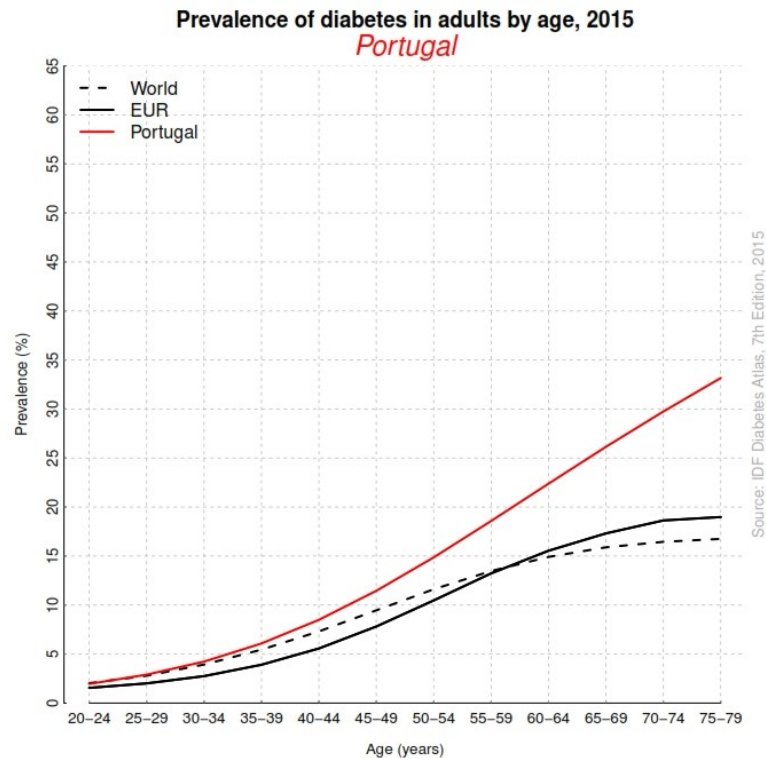


Figura 1: A prevalência da DM por faixas etárias, em Portugal e na Europa (*International Diabetes Federation*, 2016).

Nos próximos 20 anos estima-se que a sua prevalência duplique e mais de meio bilião de pessoas sejam afetadas por esta doença. Prevê-se que o seu aumento seja maior nos países desenvolvidos, uma vez que estes adotam um estilo de vida mais sedentário, com pouco exercício físico e uma dieta pouco saudável, que são grandes fatores de risco para a DMT2 (Zaccardi et al., 2015).

Os sintomas mais frequentes dos pacientes com diabetes, chamados sintomas clássicos, são os seguintes: poliúria (aumento do volume de urina), polidipsia (sede excessiva), perda de peso e visão turva (Belchetz & Hammond, 2003).

Os critérios para um correto diagnóstico de Diabetes mellitus baseiam-se na avaliação dos níveis de glucose no sangue (Canivell & Gomis, 2014). Atualmente os testes mais utilizados são os seguintes (os valores indicados com " $\geq$ " referem-se aos valores acima dos quais é estabelecido o diagnóstico):

- Glucose em jejum - é feita uma colheita em jejum (8h a 10h sem qualquer ingestão calórica)  $\geq 126$  mg/dL;
- Glucose pós-prandial de duas horas - é feita uma colheita duas horas após a ingestão de 75 mg de glucose  $\geq 200$  mg/dL;
- OGTT - é realizado um teste oral de tolerância à glucose, uma versão modificada da glicemia pós-prandial e é mais frequente realizar-se para o diagnóstico da Diabetes gestacional: se for realizado na 24ª semana  $\geq 80$  mg/dL e se for na 28ª semana  $\geq 140$  mg/dL;
- Glucose aleatória - é feito um teste sanguíneo a indivíduos que apresentem sintomas clássicos de hiperglicemia  $\geq 200$  mg/dL;
- HbA<sub>1c</sub> - mede a percentagem de hemoglobina glicada no sangue nos últimos 2 ou 3 meses  $\geq 6,5$  %; é especialmente útil no controlo a longo prazo para indivíduos com diabetes.

Em indivíduos já diagnosticados com DM deve-se fazer outros testes de rastreio, normalmente feitos anualmente, como fundoscopia ocular, exame à urina (para avaliar a creatinina - indicador de microalbuminémia, e possível envolvimento dos rins), examinação do pé sempre que tiver uma consulta, examinação abrangente do pé (incluindo testar a sensação dos microfilamentos) e, pelo menos uma vez por ano, avaliar o risco cardiovascular. Além destes exames, todos os diabéticos devem fazer uma monitorização diária dos seus níveis de glucose a fim de evitar possíveis complicações relacionadas com a DM ou, pelo menos, para as detetar a tempo para que se possa iniciar o tratamento o mais breve possível (Blair, 2016).

A Diabetes mellitus é uma doença que afeta todo o organismo. Por esta mesma razão existem várias complicações associadas, nomeadamente, complicações microvasculares, macrovasculares, problemas a nível da pele e dos tecidos moles e algumas infeções (Ley et al., 2016).

As complicações microvasculares incluem nefropatia (danos nos rins) que podem levar a insuficiência renal, retinopatia (lesão da retina ocular) que pode provocar cegueira, neuropatia (danos nos nervos) que pode causar impotência e úlceras no pé que podem causar infecções e levar a amputações. Estas complicações resultam da exposição a altos níveis de glucose que fazem com que os vasos sanguíneos se tornem mais estreitos (Blair, 2016).

As complicações macrovasculares incluem doenças cardiovasculares como enfartes do miocárdio, derrames e insuficiência de fluxo sanguíneo nos membros inferiores. Estudos comprovaram que pessoas com diabetes, em países desenvolvidos, têm mais 10% de probabilidade de sofrer amputações do que pessoas saudáveis (Blair, 2016).

Para reduzir o risco de desenvolvimento e progressão destas complicações é imperativo um bom controle glicêmico em todos os doentes com Diabetes mellitus (Belchetz & Hammond, 2003).

Como fatores de risco não-modificáveis temos a história familiar de DM, idade, etnia, história de DG prévia, parto de um bebê macrossômico ou doenças endócrinas (Wu, Ding, Tanaka, & Zhang, 2014). Como fatores de risco modificáveis que aumentam a predisposição para a diabetes temos o sedentarismo, o tabagismo (ativo ou passivo), o consumo de álcool, a privação e má qualidade do sono, a hipertensão arterial, a alimentação (consumo frequente de carnes vermelhas, bebidas açucaradas e uma dieta rica em hidratos de carbono de rápida absorção), a obesidade e o colesterol elevado (Ley et al., 2016; Wu et al., 2014).

O objetivo da terapêutica da Diabetes mellitus é manter os níveis de glucose no sangue o mais próximo possíveis dos valores considerados normais, para que se consiga prevenir ou atrasar o desenvolvimento de possíveis complicações micro e macrovasculares (Mesa & Dalama, 2016). É necessário intervir não só sobre a hiperglicemia, mas também em todos os fatores de risco cardiovasculares como a dislipidemia, a hipertensão arterial e o tabaco, e isto consegue-se através de mudanças no estilo de vida (dieta e exercício físico) e da administração de fármacos hipoglicemiantes (Ascaso, 2013). As combinações de vários fármacos com diferentes

mecanismos de ação são os preferidos para se chegar aos níveis de HbA<sub>1c</sub> recomendados (Mesa & Dalama, 2016).

A terapêutica está dividida em fármacos antidiabéticos orais e insulinas. Dentro dos antidiabéticos orais existem: as Biguanidas (ex: metformina, é o fármaco de primeira linha) que são usadas especialmente em diabéticos obesos que não conseguiram controlar a hiperglicemia com dieta e exercício físico; os Secretagogos (ex: sulfonilureias e metiglinidas) que atualmente são usados como segunda linha no tratamento oral da DM, logo a seguir à metformina (He et al., 2015); Inibidores  $\alpha$ -glucosidase (ex: acarbose e miglitol) que são os antidiabéticos orais mais eficazes na redução da glicemia pós-prandial; as Tiazolidinedionas (ex: pioglitazona e rosiglitazona); Inibidores DPP-4 (ex: sitagliptina) que estão a ser cada vez mais utilizados no controlo da DM e estão atualmente a ser avaliados quanto aos seus efeitos cardíacos pois pensa-se que possam ter uma influência positiva em vários fatores de risco cardíacos, incluindo marcadores inflamatórios (Scheen, Esser, & Paquot, 2015); Inibidores SGLT-2 (ex: dapagliflosina e canagliflosina) que são os mais recentes antidiabéticos orais.

Quanto à insulina, esta é prescrita para o tratamento da Diabetes mellitus porque mimetiza a produção de insulina endógena sem comprometer a utilização periférica de glucose (Clements & Pharm, 2016). Existem várias insulinas e estas são distinguidas pela sua duração de ação. A insulina tem uma ação hipoglicemiante muito superior às dos restantes grupos, mas também pode induzir hipoglicemias e causar um aumento de peso. O momento em que um diabético começa a precisar de um tratamento com insulina não é fácil de estabelecer, mas por norma é indicado quando os tratamentos orais falham ou quando a HbA<sub>1c</sub> está muito elevada (Ascaso, 2013). É uma hormona que não só diminui as concentrações de glucose plasmáticas, mas também tem um potente efeito anti-inflamatório que pode contribuir para os efeitos anti-ateroscleróticos a longo prazo. Evidências sugerem que a insulina suprime o processo anti-inflamatório não só ao prevenir a hiperglicemia mas também ao modular as moléculas inflamatórias chave. A insulina tem vários efeitos pleiotrópicos que incluem os anti-inflamatórios, anti-trombóticos e propriedades anti-oxidantes (Scheen et al., 2015).

## **1.2. Inflamação e Diabetes Mellitus**

Uma resposta inflamatória normalmente começa com o deslocamento de neutrófilos ao local lesado. Estes são os primeiros a responder. Após chegarem ao local, eles matam ou expulsam, por fagocitose, os corpos estranhos e libertam citocinas. Essas citocinas induzem respostas pró ou anti-inflamatórias (Rao, Zhong, & Sun, 2014).

Para que haja um bom funcionamento celular é essencial que haja um equilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. No entanto, este equilíbrio pode ser perturbado devido à destruição e à inflamação das células  $\beta$  pancreáticas. Já se observou que certas citocinas, quimiocinas e interleucinas estão envolvidas na diabetes e provocam uma resposta inflamatória e imune que medeia a patogénese desta doença (Saxena & Modi, 2014).

Os macrófagos e os linfócitos T são as primeiras células a aparecer nos ilhéus pancreáticos no desenvolvimento da diabetes autoimune. Por esta mesma razão, diversos estudos sugerem que as citocinas libertadas por macrófagos, incluindo a IL-1 $\beta$  e o TNF- $\alpha$ , têm um papel inicial na destruição dos ilhéus das células  $\beta$  pancreáticas (Saxena & Modi, 2014).

Atualmente, é consensual que a inflamação na DMT2 apresenta duas características: por um lado, um aumento dos níveis de citocinas e quimiocinas, por outro, o aumento dos níveis e da atividade das células autoimunes, principalmente dos macrófagos (Herder, Dalmas, Böni-Schnetzler, & Donath, 2015).

Está ainda comprovado que a obesidade é um fator de risco major da DMT2. Também se sabe que a obesidade está associada a uma resposta inflamatória crónica, caracterizada por uma produção anormal de adipocinas e ativação de certas vias de sinalização pró-inflamatórias, resultando na indução de vários marcadores de inflamação biológicos (Vidal et al., 2006). Vários estudos já ligaram esta inflamação ao desenvolvimento da resistência à insulina e mostraram que a mesma envolve a produção de citocinas inflamatórias tais como o TNF, as interleucinas e as adipocinas, entre outros (Fève & Bastard, 2009).

É concebível que a sensibilidade à insulina e o funcionamento das células  $\beta$  sejam afetados por processos inflamatórios não apenas antes, mas também após o diagnóstico da DMT1 e DMT2 (Katharina et al., 2015).

Esta monografia vai focar essencialmente a descrição dos principais marcadores inflamatórios e o seu papel no processo da resposta inflamatória à Diabetes mellitus.





## 2. A Diabetes Mellitus como uma Doença Inflamatória

A inflamação é um passo inicial para várias doenças, incluindo a Diabetes mellitus (Saxena & Modi, 2014). Apesar desta doença ser uma condição pró-inflamatória, a inflamação também parece ter um papel causal na sua etiologia (Banerjee & Saxena, 2012).

A DMT1 e a DMT2 diferem na etiologia mas partilham uma característica comum, que consiste num comprometimento do funcionamento das células  $\beta$  antes do início da doença. Normalmente, o seu funcionamento diminui rapidamente na DMT1 devido à destruição autoimune progressiva, enquanto que na DMT2 esta diminuição é mais lenta. Os processos inflamatórios podem contribuir para a resistência à insulina e também para a deficiência das células  $\beta$ . Apesar de haver estudos que relacionam a inflamação com o funcionamento das células  $\beta$ , na DMT2 os estudos têm-se focado no facto de a resistência à insulina ser aparentemente a responsável pelo desencadeamento da inflamação de baixo grau presente na doença. Na DMT1 os processos inflamatórios parecem ser mais relevantes devido à sua toxicidade para com as células  $\beta$  do que devido ao seu impacto na resistência à insulina (Katharina et al., 2015).

As citocinas são um pequeno grupo de precursores de proteínas solúveis ligadas a membranas. Praticamente todas as células nucleadas conseguem sintetizar estas proteínas e, em troca, responder-lhes. Existem mais de 200 tipos de citocinas: interleucinas, fatores de crescimento, quimiocinas, interferões, hematopoetinas e fatores estimuladores de colónias. Há alguns recetores de citocinas que agem como os seus respectivos agonistas. As citocinas podem dividir-se em citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e TNF- $\beta$ ) e anti-inflamatórias (IL-1Ra, IL-4, IL-10 e IL-13) (Banerjee & Saxena, 2012).

A inflamação é uma atividade benéfica que renova o tecido lesado e remove os corpos estranhos que estejam a perturbar a homeostase, levando assim à sua rápida recuperação e a um estado de equilíbrio. Para que esta tarefa seja bem sucedida é necessário passar-se por um processo de resposta inflamatória que pode envolver um equilíbrio entre um vasto painel de moléculas bioativas, pró e anti-inflamatórias, fornecidas a partir de células inflamatórias (Jurjus et al., 2016).

Embora existam diversos mecanismos que levam à inflamação, é comum dar maior relevância aos que se passa a indicar:

- Sobrenutrição crônica e ingestão de glucose que provocam um estado de *stress* oxidativo e um estado pró-inflamatório;
- Libertação de TNF- $\alpha$  e IL-6 que suprimem a transdução de sinais de insulina e inibem a sua ação (Ali, Khan, & Khan, 2015).

Os mecanismos mais utilizados para explicar a resistência à insulina e a disfunção das células  $\beta$  em indivíduos com DMT2 têm sido o *stress* oxidativo, o *stress* do retículo endoplasmático (adiante designado por RE) (resposta do RE que resulta na interrupção do enrolamento das proteínas e na acumulação de proteínas desdobradas no RE), a deposição amilóide no pâncreas (amiloidose), a deposição ectópica de lípidos nos músculos, fígado e pâncreas, a lipotoxicidade (os efeitos tóxicos resultantes de níveis elevados de ácidos gordos livres) e a glucotoxicidade. Pensa-se que cada um destes *stress* celulares induz uma resposta inflamatória ou que é exacerbada ou associada a uma inflamação. Por este motivo a patogénese da DMT2 pode ser vista como uma doença autoinflamatória (Donath & Shoelson, 2011).

Vários estudos têm descrito a presença de níveis elevados de proteínas de fase aguda, ácido siálico, citocinas e quimiocinas em indivíduos com DMT2. Além disso, níveis elevados de IL-1 $\beta$ , IL-6 e de proteína C reativa (adiante designada por CRP) também têm sido descritos como preditores da DMT2. Do mesmo modo, as concentrações séricas do antagonista do recetor IL-1 (adiante designado por IL-1Ra) revelam-se elevadas na obesidade e na pré-diabetes, com um aumento acelerado antes do começo da DMT2. A expressão deste antagonista é induzido pelo IL-1 $\beta$  e reflete a resposta do corpo para contrabalançar o aumento de atividade do IL-1 $\beta$  (Donath & Shoelson, 2011).

Como os diabéticos apresentam um maior risco de desenvolverem uma doença cardiovascular (adiante designado por CVD), há uma necessidade de procura de novos biomarcadores que possam auxiliar na avaliação do risco de doença cardiovascular nesses indivíduos (Ali et al., 2015).

Uma predisposição genética combinada com um ambiente propenso à obesidade, caracterizado por um maior consumo de calorias e falta de atividade física, pode levar à obesidade e a um aumento do tecido adiposo (Figura 2) (Calle & Fernandez, 2012).

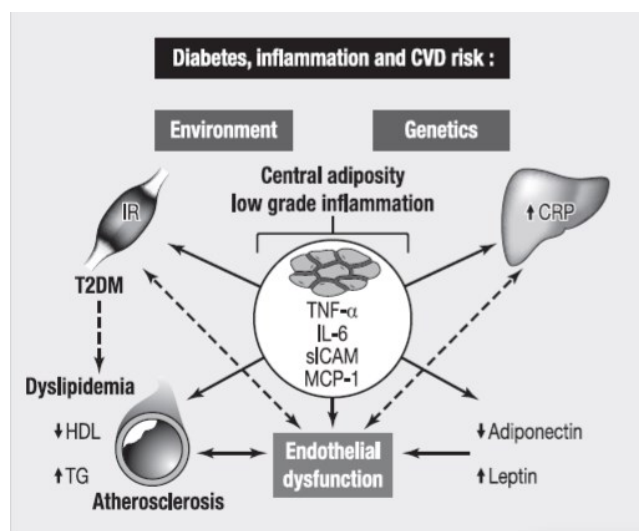


Figura 2: A relação entre marcadores inflamatórios e a disfunção endotelial (Calle & Fernandez, 2012).

Níveis elevados da proteína C reativa são o melhor e o mais seguro indicador do risco de CVD em indivíduos com DMT2, devido ao seu papel fundamental na aterosclerose. Esta proteína aumenta a liberação do fator tecidual dos macrófagos, leva a uma ativação do sistema do complemento e provoca a agregação do LDL-C e do VLDL-C ao ligar-se a eles (Ali et al., 2015).

Os níveis elevados de proteínas de fase aguda, IL-1 $\beta$  e IL-6 na DMT2 podem refletir a ativação de células da imunidade inata devido a um aumento da concentração de nutrientes, mas os níveis destes marcadores inflamatórios não refletem necessariamente o grau de inflamação em tecidos individuais. Nem mesmo é provável que grandes níveis de inflamação em ilhéus contribuam para os níveis circulatórios desses marcadores (Donath & Shoelson, 2011).

O fígado e o tecido adiposo, no entanto, podem contribuir, desproporcionalmente, para os níveis circulatórios dos marcadores inflamatórios. Estes níveis, em indivíduos obesos com pré-diabetes, são semelhantes aos níveis de indivíduos com diabetes já aparente. Além disso, os níveis de CRP ou de IL-6 não preveem a eficácia dos tratamentos anti-inflamatórios direcionados à secreção de insulina ou à resistência à insulina (Donath & Shoelson, 2011).

Os mecanismos que podem explicar a relação entre a diabetes e a inflamação de baixo grau podem ser diretos ou indiretos. Por exemplo, uma citocina como o TNF- $\alpha$  pode produzir uma resistência à insulina ao influenciar a função do recetor da insulina ou ao estimular a lise dos adipócitos. Por outro lado, a disfunção endotelial pode ligar a inflamação à resistência à insulina. Os mecanismos estabelecidos para diminuir a resistência à insulina, tais como as medidas farmacológicas e as não farmacológicas, têm efeitos anti-inflamatórios significativos (Freeman et al., 2002).

### 3. Marcadores Inflamatórios

#### 3.1. Proteína C Reativa

A proteína C reativa pertence à subfamília das pentraxinas curtas e é considerada uma proteína de fase aguda, uma vez que a sua síntese aumenta extraordinariamente nos processos inflamatórios. Apesar de variarem de população para população, os níveis normais de CRP estão entre 0,25 e 0,5 mg/dL, sendo que na presença de processos inflamatórios este valor pode aumentar entre 100 a 1000 vezes (Gómez Gerique JA, 2012). Altas concentrações de CRP têm sido associadas a doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, inflamação, tabaco e a um estilo de vida sedentário (Calle & Fernandez, 2012).

O seu aumento é atualmente considerado o melhor biomarcador epidemiológico da doença cardiovascular associada à DM2. Esta proteína é produzida no fígado através da indução da IL-6 (Donath & Shoelson, 2011).

Já se tinha concluído que os níveis plasmáticos de CRP de alta sensibilidade (adiante designado por hsCRP) serviam como um preditor independente de futuros riscos cardiovasculares, mesmo em indivíduos saudáveis. Na obesidade esta correlação é menor, mas existe. Através dos resultados do *West of Scotland Coronary Prevention Study* (WOSCOPS) foi descoberto que a CRP não só é um fator de risco para o desenvolvimento da diabetes, mas também é um fator de risco independente de todos os outros já estabelecidos (Freeman et al., 2002).

A obesidade é igualmente responsável pelo aumento das concentrações de CRP, uma vez que o tecido adiposo é o principal indutor de IL-6, que estimula a produção desta proteína (Gómez Gerique JA, 2010). Um estudo feito por Ali et al., (2015), concluiu que indivíduos com diabetes e CVD apresentavam níveis de hsCRP mais elevados do que indivíduos que apenas sofriam de diabetes.

A CRP é codificada no cromossoma 1 e é maioritariamente sintetizada nos hepatócitos como um reagente de fase aguda e em resposta à estimulação pela IL-6 e pelo TNF- $\alpha$ , mas também pode ser libertada por adipócitos maduros sob estimulação inflamatória do LPS, TNF- $\alpha$  e da resistina (Calle & Fernandez, 2012; Gómez Gerique JA, 2012).

A CRP aumenta a produção da molécula de adesão intercelular-1 (adiante designada por ICAM-1) e da proteína quimiotática de monócitos-1 (adiante designada por MCP-1) pelas células endoteliais. Acredita-se que estas duas moléculas estão envolvidas no desenvolvimento da aterosclerose. As moléculas de adesão intercelular-1 solúveis (adiante designada por sICAM-1), por exemplo, medeiam a adesão das células mononucleares ao endotélio para entrarem no espaço subendotelial (Calle & Fernandez, 2012).

A CRP apresenta duas isoformas: a pCRP (forma pentamérica) e a mCRP (forma monomérica). A mCRP também se divide em mCRPm (unida a membranas) e em mCRPs (solúvel no plasma) (Gómez Gerique JA, 2012).

O impacto da CRP como um fator de risco de doença cardiovascular é no mínimo tão grande como a do colesterol LDL, do colesterol HDL e da pressão arterial (Calle & Fernandez, 2012). Um aumento da concentração de CRP superior a 0,3 mg/dL deve ser considerado um marcador de risco que eleva o nível de risco cardiovascular (Gómez Gerique JA, 2012).

Aparentemente, a função principal da CRP é estimular a síntese da produção do fator tecidual e ativar o complemento, quando agregado. Estudos *in vitro* provaram que quando a CRP agregada se liga à LDL-C e à VLDL-C, provoca uma ativação do complemento e o início da coagulação, o que explica, em parte, a conexão entre a CRP e a CVD. Após uma perda de peso, é comum verificar-se uma diminuição dos níveis de CRP, o que está relacionado com a elevação dos níveis de adiponectina, conforme poderemos ver mais adiante (Calle & Fernandez, 2012).

Com o aparecimento de técnicas de quantificação com maior sensibilidade para detetar esta proteína em indivíduos normais, tem sido cada vez mais fácil estender o uso das suas concentrações como indicador de situações de inflamação crónica de baixo grau, como é o caso da Diabetes mellitus (Gómez Gerique JA, 2012).

A IL-6 e o TNF- $\alpha$  regulam a libertação e aumentam os níveis de CRP no organismo. Novos estudos mostram uma associação entre os níveis de CRP e os de IL-6 com o risco de incidência de DMT2 (Liu et al., 2016).

A importância deste biomarcador está no facto dele ter uma semi-vida relativamente longa, sem variação diurna, e de se manter estável durante longos períodos de tempo em pessoas com infeções agudas ou doenças inflamatórias (Calle & Fernandez, 2012). É um dos biomarcadores epidemiológicos mais bem estudados na pré-diabetes, diabetes e nas doenças cardiovasculares associadas à DMT2 (Grossmann et al., 2015).

### 3.2. TNF- $\alpha$

O TNF- $\alpha$  é uma citocina que pertence à família dos fatores de necrose tumoral e é produzida pelos macrófagos, linfócitos e células NK (*natural killer*). No tecido adiposo, a principal fonte do TNF- $\alpha$  são os infiltrados de macrófagos. Este fator é produzido 7,5 vezes mais pelo tecido adiposo em indivíduos obesos do que sucede em indivíduos magros. Ele promove a inflamação e a ativação endotelial, aumentando assim a permeabilidade vascular (Calle & Fernandez, 2012). É uma proteína transmembranar de 26 kDa que é clivada numa proteína biologicamente ativa de 17 kDa (Musi & Guardado-Mendoza, 2014).

O TNF- $\alpha$  atua principalmente ao nível do tecido adiposo e do fígado. No tecido adiposo este fator reprime os genes que estão envolvidos na captação e no armazenamento dos ácidos gordos não esterificados (adiante designado por NEFAs) e da glucose, suprime genes para os fatores de transcrição envolvidos na adipogénese e lipogénese, e muda a expressão de vários fatores secretados por adipócitos, incluindo a adiponectina e a IL-6 (Musi & Guardado-Mendoza, 2014). No fígado, o TNF- $\alpha$  suprime a expressão dos genes envolvidos na captação e no metabolismo da glucose e na oxidação dos ácidos gordos e aumenta a expressão de genes envolvidos na síntese endógena do colesterol e dos ácidos gordos (Musi & Guardado-Mendoza, 2014; Speretta, Leite, & Duarte, 2014).

O TNF- $\alpha$  provoca uma diminuição da atividade da tirosina quinase em indivíduos com resistência à insulina, o que sugere que este fator seja um possível mediador da resistência à insulina e da Diabetes mellitus (Saxena & Modi, 2014).

A libertação local aguda do TNF- $\alpha$  induz uma resposta inflamatória local para conter infeções, o que o torna benéfico. No entanto, a libertação sistémica aguda do TNF- $\alpha$  pode levar a sépsis e choque. Da mesma forma, níveis crónicos de TNF- $\alpha$  elevados, como verificado na obesidade, também são prejudiciais, especialmente para o metabolismo da glucose. Este fator pode alterar a sensibilidade à insulina de várias maneiras: 1) por atenuação das vias de sinalização do recetor de insulina; 2) por diminuição do transportador de glucose tipo 4 (adiante designado por GLUT-4) nos adipócitos; 3) por supressão da adiponectina (Calle & Fernandez, 2012).



O TNF- $\alpha$  também parece agir como antagonista da síntese e/ou da ação dos recetores ativados por proliferador de peroxissoma  $\gamma$  (adiante designado por PPAR $\gamma$ ). Os agonistas dos PPAR $\gamma$  (tiazolidinedionas sensibilizadoras de insulina) podem facilmente anular os efeitos do TNF- $\alpha$  nas células adiposas e até serão capazes de inibir a sua síntese em gordura (Moller, 2000). Além disso, o TNF- $\alpha$  aumenta a expressão dos genes que codificam a IL-6 e a MCP-1 e contribui para a progressão da aterosclerose (Calle & Fernandez, 2012).

A insulina estimula a fosforilação dos substratos do recetor de insulina (adiante designado por IRS) em tirosina. Na maior parte dos casos de resistência à insulina sistêmica, este passo na sinalização do recetor de insulina é fraco. Já está bem estabelecido que o IRS-1 é fosforilado em resíduos de serina por várias quinases que interferem com a capacidade desta proteína se envolver na sinalização do recetor de insulina, o que resulta em alterações na ação da insulina (Hotamisligil, 2006). O TNF- $\alpha$  tem um grande papel na resistência à insulina através da fosforilação dos IRSs em serina. Este fator é capaz de inibir a capacidade de sinalização do IRS-1 através da ativação de serino-quinases, tais como a quinase c-Jun N-terminal (adiante designada por JNK) ou o complexo quinase I $\kappa$ B (adiante designada por I $\kappa$ K), além de provocar um aumento da expressão de proteínas supressoras da sinalização de citocinas-3 (adiante designado por SOCS3) (Speretta et al., 2014).

O TNF- $\alpha$  também provoca uma redução da oxidação de ácidos gordos nos hepatócitos e no músculo esquelético através de efeitos mediados pela indução da proteína fosfatase 2C e supressão da proteína quinase AMP (adiante designada por AMPK) (Speretta et al., 2014). As SOCS também parecem inibir a ação da insulina ao mesmo nível que os substratos do recetor de insulina, mas através de um mecanismo diferente (Hotamisligil, 2006).

O fator nuclear kappa B (adiante designado por NF- $\kappa$ B) é um fator de transcrição que tem uma função-chave na integração da regulação intracelular da resposta imune, inflamação e regulação do ciclo celular. Este fator também modula a expressão de várias citocinas inflamatórias, incluindo o do TNF- $\alpha$  (Calle & Fernandez, 2012). Estas citocinas promovem a resistência à insulina nos tecidos onde são produzidas e podem ser transportadas através da circulação e afetar outros locais,

incluindo as paredes dos vasos sanguíneos, o músculo esquelético e cardíaco, os rins e os leucócitos (Donath & Shoelson, 2011).

As concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  foram correlacionados positivamente com níveis elevados de triglicéridos no plasma e com insuficiência cardíaca. O TNF- $\alpha$  é expresso no mRNA e nas proteínas apenas quando há uma insuficiência cardíaca, não acontecendo o mesmo num coração saudável. O TNF- $\alpha$  também apresenta múltiplos efeitos nocivos para o coração, incluindo miocardiopatia hipertrófica e apoptose, e deficiência da função contrátil, o que explica a sua relação com a insuficiência cardíaca. Também há evidências que mostram que o TNF- $\alpha$  induz a sobreprodução de partículas VLDL-C, o que pode explicar a sua relação direta com os triglicéridos plasmáticos. No entanto, também existem estudos que indicam que o nível de TNF- $\alpha$  pode ser diminuído por intervenções de perda de peso (Calle & Fernandez, 2012).

### 3.3. Adiponectina

A adiponectina é uma proteína plasmática específica e abundantemente expressa no tecido adiposo, com efeitos anti-inflamatórios e insulino-sensibilizadores, induzidos pela atividade do recetor nuclear PPAR $\gamma$ . Uma diminuição do tecido adiposo está associada a um aumento da adiponectina. Ao contrário de outras adipocinas, as concentrações desta proteína encontram-se mais baixas em indivíduos obesos. Isto provoca uma redução na sensibilidade à insulina que, por sua vez, contribui substancialmente para a resistência à insulina (Lim, Quon, & Koh, 2014). Também se encontram reduzidas em indivíduos com CVD e Diabetes mellitus. As baixas concentrações de adiponectina estão fortemente relacionadas com a resistência à insulina e as altas concentrações com uma maior sensibilidade à insulina e um menor risco de CVD (Calle & Fernandez, 2012). Põe-se a hipótese de que altos níveis de adiponectina possam contribuir, direta ou indiretamente, para o atraso e/ou prevenção da DMT2 e CVD (Lim et al., 2014).

Desde a sua descoberta que esta proteína tem atraído muita atenção devido às suas propriedades anti-inflamatórias, anti-diabéticas, anti-aterogênicas e cardioprotetoras. É uma proteína de 30 kDa composta por um domínio de colagénio no terminal N e um domínio globular no terminal C. O seu gene está localizado no cromossoma 3q27 que é um *locus* de suscetibilidade à diabetes (Lim et al., 2014).

A adiponectina também é considerada uma hormona mas, ao contrário da insulina, não sofre uma variação dos seus níveis ao longo do dia e não é afetada pelo consumo de alimentos (Saxena & Modi, 2014). Daí poder ser considerada um marcador inflamatório.

Devido ao facto de também se comportar como uma hormona, a adiponectina pode regular negativamente as respostas inflamatórias *in vitro*. Também parece contribuir para a promoção da sobrevivência e do funcionamento das células  $\beta$  pancreáticas, participando na proteção contra um desenvolvimento tardio da diabetes, mesmo após o ajustamento para múltiplos fatores de perturbação (Liu et al., 2016).

A ação insulino-sensibilizadora da adiponectina envolve a ativação da AMPK, que regula as concentrações de malonil-CoA por inibição da acetil-CoA carboxilase

(Vidal et al., 2006). Esta ativação também causa a oxidação dos ácidos gordos e a captação de glucose (Lim et al., 2014). Há uma redução de malonil-CoA pela AMPK, o que provoca um aumento na concentração de ácidos gordos. A maior parte da oxidação dos ácidos gordos do músculo esquelético provoca uma diminuição do transporte dos FFAs (ácidos gordos livres) até ao fígado, levando a uma redução da síntese de triglicéridos hepáticos e da secreção de VLDL-C (Calle & Fernandez, 2012).

A AMPK também estimula os PPAR $\alpha$ , fazendo com que a adiponectina estimule a oxidação dos ácidos gordos e cause uma diminuição dos triglicéridos nos músculos e no tecido hepático, resultando assim numa melhoria da sensibilidade à insulina (Lim et al., 2014). Também podemos observar uma redução na concentração de ácidos gordos livres no tecido periférico, o que previne a lipotoxicidade e a interferência de ácidos gordos na sinalização do recetor de insulina. A adiponectina é capaz de reduzir a produção de glucose no fígado por inibição direta da enzima gluconeogénica, fosfoenolpiruvato carboxicinase, e da glicose-6-fosfato, melhorando assim o controlo glicémico e a sensibilidade à insulina (Calle & Fernandez, 2012).

O TNF- $\alpha$  e a IL-6 também reduzem a expressão da adiponectina. Esta adipocina exerce o seu efeito anti-inflamatório ao inibir a ativação do NF-kB pelo TNF- $\alpha$ , que pode ser parcialmente explicado pelo facto de a adiponectina modular a resposta inflamatória induzida pelo TNF- $\alpha$ , ou seja, o efeito anti-TNF- $\alpha$ , uma vez que já se provou que esta proteína reduz a secreção de TNF- $\alpha$  pelos macrófagos. Este facto também explica, em parte, o efeito anti-aterogénico da adiponectina (Calle & Fernandez, 2012; Vidal et al., 2006).

### 3.4. IL-1

Esta família de interleucinas danifica a secreção de insulina e induz a apoptose das células  $\beta$  pancreáticas. A IL-1 é um indutor de moléculas essenciais para a adesão de leucócitos à superfície endotelial antes da sua emigração para os tecidos. Estudos sugerem que não só o funcionamento mas também a diminuição progressiva da massa das células  $\beta$  contribuem para a manifestação da DMT2, facto que pode ser explicado devido ao aumento da apoptose das células  $\beta$  (Banerjee & Saxena, 2012).

A família IL-1 consiste em duas citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) e um agente anti-inflamatório, um antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra ou IL-1RN). Visto a DMT1 ser um processo imuno-mediado, as citocinas pró-inflamatórias, principalmente a IL-1 $\beta$ , têm um papel essencial (Banerjee & Saxena, 2012).

A IL-1 atua com outras citocinas para promover as respostas inflamatórias. Como exemplo, a IL-1 e o TNF- $\alpha$  são produzidos em locais inflamados em resposta ao mesmo estímulo e partilham a mesma via de transdução intracelular e também aumentam a produção um do outro e atuam sinergicamente (Fève & Bastard, 2009).

#### IL-1 $\beta$

A ativação do sistema IL-1 promove várias doenças, incluindo a diabetes e as suas complicações cardiovasculares. A IL-1 $\beta$  provou ser um importante fator na patogénese da DMT2 e estudos recentes já validaram o antagonista do recetor de IL-1 como um alvo terapêutico (Herder et al., 2015).

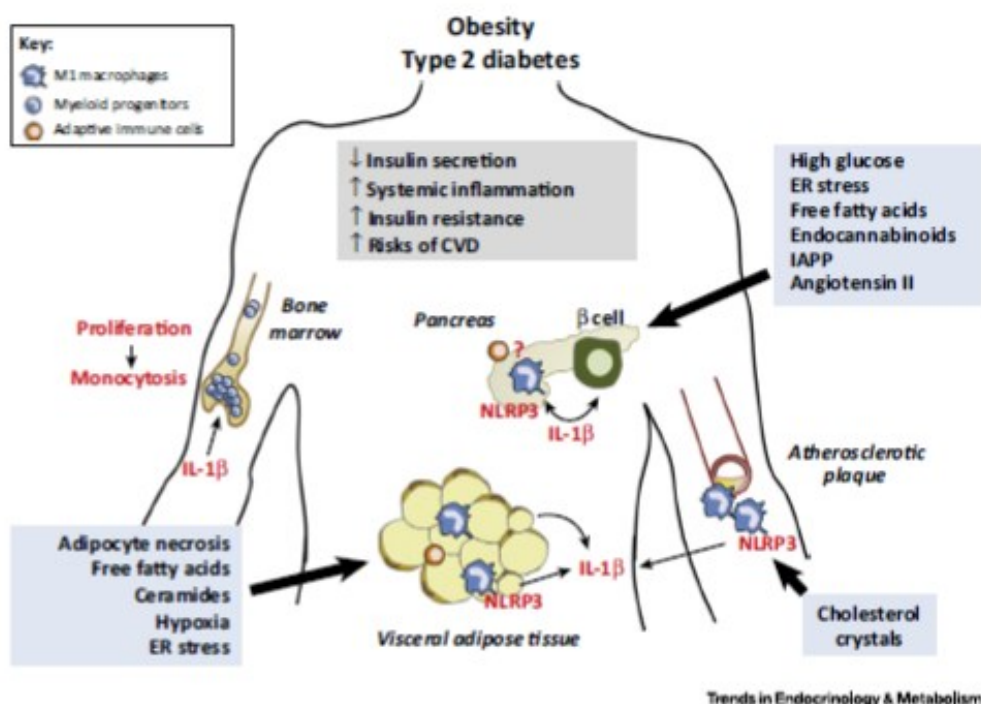


Figura 3: O papel da IL-1 $\beta$  na resposta inflamatória (Herder et al., 2015).

Pode-se observar um aumento da produção da IL-1 $\beta$  na obesidade e na DMT2. Os mecanismos subjacentes à ativação da IL-1 $\beta$  atribuem um papel central ao inflamassoma do domínio 3 do recetor do tipo Nod (adiante designado por NLRP3) (Banerjee & Saxena, 2012). No tecido adiposo, os adipócitos começam a armazenar nutrientes em excesso o que rapidamente os torna hipertróficos, levando a uma resposta pró-inflamatória principalmente através de mecanismos de hipóxia e de *stress* do RE. Os adipócitos stressados secretam citocinas e quimiocinas que, por sua vez, promovem a resistência à insulina e o recrutamento de células imunes. Os macrófagos tornam-se assim na principal fonte de secreção de IL-1 $\beta$  através da ativação do NLRP3 (Figura 3) (Herder et al., 2015).

Altas concentrações de glucose induzem a produção de IL-1 $\beta$  nas células pancreáticas, comprometendo a secreção de insulina, uma diminuição da proliferação celular e a apoptose das células  $\beta$ . Os níveis elevados de glucose levam a uma produção de IL-1 $\beta$  seguida pela ativação da NF- $\kappa$ B e a uma sobre-regulação da sinalização de Fas, denominado "apoptose autócrina" (Banerjee & Saxena, 2012).

A IL-1 $\beta$ , juntamente com a ação da glucose, ativa a via NF- $\kappa$ B nos ilhéus das células  $\beta$  pancreáticas, e a sua inibição parece proteger as células  $\beta$  dos efeitos da

glucotoxicidade ou de tratamentos com químicos tóxicos para estas células. As vias NF- $\kappa$ B e JNK são assim ativadas em vários tecidos, na obesidade e na DMT2, e têm um papel central na promoção da inflamação nos tecidos (Donath & Shoelson, 2011).

Um estudo realizado por Böni-Schnetzler et al. (2008) verificou que a produção de IL-1 se encontra alterada nos ilhéus pancreáticos de indivíduos com diabetes. Observaram também que altos níveis de IL-1 $\beta$  e de IL-6 estavam relacionados com um maior risco de DMT2 comparado com indivíduos que apenas apresentavam uma maior concentração de IL-6. Também observaram um aumento da concentração de IL-1 $\beta$  em indivíduos com DMT1.

Foi observada, sob condições *in vitro*, a exposição de células secretoras de insulina (ilhéus pancreáticos) à IL-1 $\beta$  sozinha ou em combinação com INF- $\gamma$  e/ou TNF- $\alpha$ , o que levou a uma deficiência do funcionamento das células  $\beta$  e à indução da apoptose celular. A IL-1 ativa a via JNK nas células  $\beta$  pancreáticas. A JNK é um membro da proteína quinase ativada por mitogénio (adiante designada por MAPK) ativada por *stress* e está envolvida na transmissão de *stress* e na sinalização de apoptose em várias células. A ativação da JNK pela IL-1 $\beta$  nas células secretórias de insulina permanece desconhecida (Banerjee & Saxena, 2012). Indivíduos com a IL-1 $\beta$  e IL-6 presente em maior quantidade no organismo têm uma probabilidade cerca de 3 vezes maior de desenvolverem DMT2 (Herder et al., 2015).

### IL-1Ra

A expressão de IL-1Ra é induzida pela IL-1 $\beta$  e reflete a resposta do organismo para contrabalançar o aumento da atividade da IL-1 $\beta$  (Donath & Shoelson, 2011). As células produtoras de IL-1 sintetizam o seu próprio antagonista (IL-1Ra), que se liga ao recetor de IL-1R, sem adquirir as propriedades agonistas, ou seja, sem o ativar, sendo assim capaz de modular as respostas inflamatórias (Böni-Schnetzler et al., 2008). Este antagonista protege os ilhéus humanos da glucotoxicidade (Maedler et al., 2004).

Num estudo em que se comparou as concentrações de IL-1Ra no tecido adiposo de ratos magros e no tecido adiposo de ratos obesos observou-se um aumento dessas concentrações nos ratos magros e uma diminuição nos ratos obesos (Maedler et al., 2004).

A expressão de IL-1Ra está reduzida nos ilhéus pancreáticos de indivíduos com DMT2 e altas concentrações de glucose induzem a produção de IL-1 $\beta$  nas células pancreáticas, levando a uma melhoria da secreção de insulina, uma diminuição da proliferação celular e a uma morte celular por apoptose (Banerjee & Saxena, 2012).

Um estudo clínico demonstrou que o bloqueio da IL-1 em indivíduos com DMT2 com o antagonista do recetor de IL-1 (IL-1Ra) resultou numa melhoria dos níveis de glucose no sangue e da secreção de insulina, na ausência de alterações da resistência de insulina periférica e índice de massa corporal (adiante designado po BMI) (Böni-Schnetzler et al., 2008).



### 3.5. IL-2

Esta interleucina é produzida por linfócitos T ativados e é através da sua ligação ao seu recetor (IL-2R) que exerce a sua atividade biológica. O recetor da IL-2 divide-se em três subunidades: IL-2R $\alpha$  (ou CD25), IL-2R $\beta$  (ou CD122) e IL-2R $\gamma$  (ou CD132). Este último é o recetor mais comum. Cada um destes recetores contribui para a ligação da IL-2 (Chistiakov, Voronova, & Chistiakov, 2008). A ligação da IL-2 ao IL-2R $\alpha$  leva à associação desta subunidade com a cadeia IL-2R $\beta$  e IL-2R $\gamma$ , o que resulta na formação do recetor de alta afinidade de IL-2 (Ferjani et al., 2016).

A IL-2 atua em vários tipos de células, mas onde a sua ação é mais notável é nos linfócitos T. Uma das suas principais funções é promover a proliferação e a expansão dos clones dos dois antígenos específicos das células T, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, e induzir a produção de outras citocinas (Chistiakov et al., 2008).

A IL-2 é essencial para a expansão e apoptose das células T. Enquanto altas concentrações de IL-2RA solúvel (adiante designado por sIL-2RA) estão presentes em indivíduos saudáveis, elas encontram-se aumentadas em indivíduos com doenças autoimunes, inflamação e infeção (Ferjani et al., 2016).

A IL-2 é uma potente citocina pró-inflamatória que exerce efeitos importantes na biologia das células T regulatórias (adiante designado por células Treg) e, portanto, na homeostase da resposta imune (Vargas et al., 2015). As células Treg são definidas pela co-expressão das CD4<sup>+</sup> e CD25. Estas células suprimem a ativação, a proliferação e as funções efectoras das células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> através de citocinas e outros mecanismos. A IL-2 participa na sobrevivência periférica e na função supressora das células Treg (Hartemann & Bourron, 2012).

A IL-2 começa por se ligar a um recetor de alta afinidade que contenha as três subunidades (cadeia  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ) (Hartemann & Bourron, 2012). Esta ligação resulta na fosforilação das JAKs (JAK1 e JAK3), o que vai resultar na criação de locais de ligação para os fatores de transcrição 5 (STAT5). Estes fatores vão deslocar-se para o núcleo e ativar a transcrição de genes. Isto resulta numa indução da expressão de genes anti-apoptóticos e na regulação da proliferação e sobrevivência da célula (Hulme, Wasserfall, Atkinson, & Brusko, 2012).

Quanto ao seu papel na DM, esta interleucina tem gerado resultados controversos devido à complexidade dos mecanismos regulatórios em que está envolvida. É importante referir que a maioria das suas evidências são obtidas a partir de estudos animais e, por isso, ainda não há certezas sobre a sua ação em seres humanos.

Um aumento dos níveis do sIL-2RA tem sido observado em várias doenças inflamatórias autoimunes, como é o caso da DMT1. Ele é considerado um marcador da ativação das células T na inflamação (Chistiakov et al., 2008).

As conclusões que podemos obter em humanos são suportadas por estudos em ratinhos diabéticos não-obesos (adiante designado por NOD), um modelo animal da DMT1, que mostra o envolvimento do gene murino IL-2 no controlo da suscetibilidade à diabetes autoimune no locus *idd3* do cromossoma 3 (Chistiakov et al., 2008). Vários estudos sugerem que uma privação de IL-2 possa ser parcialmente responsável pela disfunção das células Treg na DMT1. Ratinhos NOD apresentam uma diminuição qualitativa da produção de IL-2 e acredita-se que haja uma ligação entre uma predisposição genética para o desenvolvimento de DMT1 e o polimorfismo do gene IL-2/IL-2R nestes ratinhos e em humanos. Além disso, as células Treg em ilhéus inflamados de ratinhos NOD têm uma redução concomitante da expressão de CD25, expressão essa que está sob o controle da IL-2 (Hartemann & Bourron, 2012).

Vargas et al., (2015) observou uma correlação negativa entre a insulina e a IL-2, o que sugere que a insulina tem um papel anti-inflamatório na diminuição desta interleucina. Baixos níveis de IL-2 podem induzir uma diminuição das células T regulatórias e uma incapacidade de controlar as respostas autorreativas e inflamatórias ao induzirem um excesso de atividade de resposta das células T, em vez de induzirem uma imuno-deficiência. Com isto concluíram que os baixos níveis da IL-2 podem contribuir para a persistência do estado inflamatório da DM.

Já foi verificado que a administração de doses baixas de IL-2 a ratinhos NOD cura, parcialmente, uma diabetes já estabelecida, ao aumentar a função reguladora das células Treg no local da inflamação (Hartemann & Bourron, 2012).

### 3.6. IL-6

A IL-6 é uma citocina multi-funcional que atua em várias células e tecidos e que também é produzida por vários tipos de células e tecidos, incluindo o tecido adiposo. É já um facto bem conhecido que a sua produção pelo tecido adiposo está aumentada na obesidade. Pensa-se que cerca de 15 a 30% dos níveis de IL-6 no organismo derivam da sua produção pelo tecido adiposo na ausência de uma inflamação aguda. Recentemente foi proposto que a IL-6 tivesse um papel central na ligação entre a obesidade, doenças cardíacas e inflamação (Vidal et al., 2006). As suas concentrações e as de CRP estão aumentadas na obesidade e preveem a incidência de DMT2 em indivíduos geneticamente predispostos. Pensa-se que a produção de IL-6 no fígado e no tecido adiposo promova a resistência à insulina e que a sua produção pelo músculo esquelético, especialmente durante a prática intensa de exercício físico, poderá ser benéfica (Donath & Shoelson, 2011).

A IL-6 apresenta efeitos pró e anti-inflamatórios. Ela regula vários processos como a resposta de fase aguda e a autoimune, a inflamação, vários mecanismos de defesa, a hematopoiese e o crescimento celular (Buraczynska, Zukowski, Drop, Baranowicz-Gaszczyk, & Ksiazek, 2015).

Os principais efeitos metabólicos da IL-6 são no fígado, tecido adiposo e no músculo esquelético (Figura 4) (Fève & Bastard, 2009).

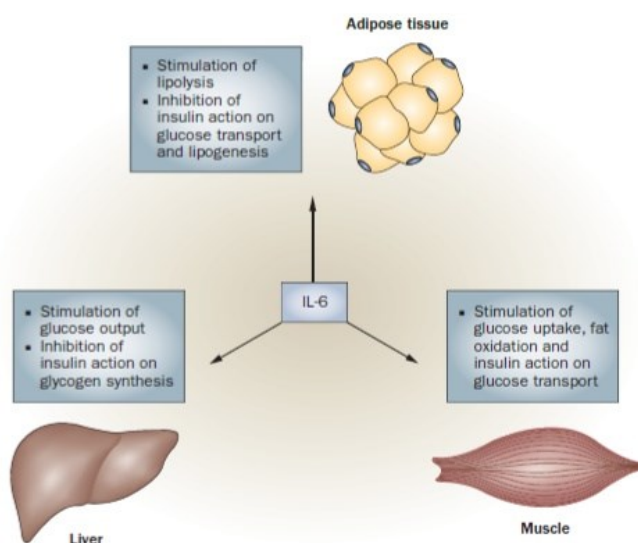


Figura 4: Os efeitos metabólicos da IL-6 (Fève & Bastard, 2009).

No fígado, a IL-6 prejudica a sinalização de insulina e leva a uma inibição da fosforilação do IRS-1 e do IRS-2 em tirosina e a uma síntese de glicogénio. No tecido adiposo, leva a uma estimulação da lipólise e inibe a ação da insulina no transporte de glucose e da lipogénese. No músculo esquelético, a IL-6 pode melhorar a sensibilidade à insulina nos músculos ao induzir a ativação da AMPK, uma reguladora-chave da oxidação dos ácidos gordos musculares e da absorção de glucose (Fève & Bastard, 2009).

Esta interleucina é secretada por células apresentadoras de antígenos, isto é, células imunocompetentes que medeiam a resposta imune celular através do processamento e apresentação de antígenos para os recetores das células T, em resposta não só a estímulos externos, como o TNF- $\alpha$  ou a IL-1 $\beta$ , mas também a componentes bacteriais e fúngicos. A IL-6 é uma antagonista das células regulatórias T e importante para a diferenciação da Th17. Também é necessária para que as células T CD4<sup>+</sup> induzam a produção da IL-21, uma citocina obrigatória na diabetes autoimune em ratinhos diabéticos não obesos (Van Belle et al., 2014).

O recetor desta citocina pertence aos recetores de citocinas de classe I que envolvem as vias transdutoras de sinais JAK/STATs (Janus quinases/transdutores de sinal e ativadores da transcrição). A ativação da JAK induz a fosforilação das STATs, a sua dimerização e translocação para o núcleo, para poder regular o gene de transcrição alvo (Vidal et al., 2006).

Vários estudos em diferentes áreas mostraram que a IL-6 tem ações patogénicas e também protetoras na DMT1 e na DMT2 (Van Belle et al., 2014). Uma regulação inadequada desta interleucina pode desempenhar um papel de deleção em doenças imuno-mediadas por antígenos específicos e em doenças onde a IL-6 ou outros marcadores inflamatórios, que provocam uma inflamação de baixo grau, como na obesidade e na DMT2, o que é provável que esteja envolvido na patogénese destas doenças (Kristiansen & Mandrup-poulsen, 2005).

Quanto ao seu mecanismo, a IL-6 induz a ativação da via JAK/STAT, o que pode levar a um aumento da expressão de supressores de sinalização de citocinas (SOCS) e em particular do SOCS-3, que vai exercer um feedback negativo na sinalização de JAK/STAT. Isto resulta na inibição da autofosforilação do recetor de

insulina e na inibição da fosforilação dos IRS-1 e 2 em tirosina, provocando uma diminuição do armazenamento do glicogénio. A IL-6 também sinergiza com outros mediadores inflamatórios para agravar os danos das células  $\beta$  (Kristiansen & Mandrup-poulsen, 2005).

As suas concentrações não só predizem a doença mas também estão mais elevadas em indivíduos com DMT2. Nestes casos, há evidências de que os níveis de IL-6 já estão elevados anos antes do começo da doença (Kristiansen & Mandrup-poulsen, 2005). Resultados do *EPIC-Potsdam Study* verificou que a IL-6 prediz de forma independente o risco de desenvolver DMT2 e que uma maior concentração de IL-6 associada a níveis detetáveis de IL-1 $\beta$  também prediz o risco de DMT2 (Spranger, Kroke, Mo, Hoffmann, & Bergmann, 2003).

Apesar de os resultados em indivíduos com DMT1 não serem tão evidentes, parece que estes têm uma tendência para apresentar níveis mais elevados de IL-6 quando comparados com indivíduos que não possuem a doença. Estudos experimentais mostraram que a IL-6 é produzida por ilhéus isolados de ratinhos após a exposição a INF- $\gamma$  e a TNF- $\alpha$  (Van Belle et al., 2014).

Van Belle et al., (2014) provou que a produção de IL-6 e respetivo antigénio pelas células  $\beta$  pode causar uma hiperglicemia espontânea e interfere com a expressão da GLUT-2 (em ratinhos). Um estudo realizado por Mirza et al., (2012) concluiu não só que altos níveis de IL-6 estão associados a Diabetes mellitus mas também que quanto pior for o controlo da glucose, maiores serão as suas concentrações.

### 3.7. IL-10

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória cuja concentração se encontra diminuída na diabetes. Na sua forma solúvel apresenta uma massa molecular de 17 kDa e é produzida principalmente por macrófagos e linfócitos. Em indivíduos magros é produzida por macrófagos M2 no tecido adiposo (Speretta et al., 2014).

É considerada uma citocina pleiotrópica Th2, isto é, pode atuar em mais do que um tipo de células. A IL-10 estimula a produção de anticorpos pelos linfócitos B e promove a sua proliferação e diferenciação, propriedades que contribuem para o desenvolvimento de fenómenos autoimunes (Tsiavou et al., 2004). Esta citocina suprime a função das células apresentadoras de antígenos ao inibir a expressão das moléculas MHC de classe II na superfície de macrófagos mononucleares (Li, Zhang, Chen, Lin, & Li, 2016).

A IL-10 inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, o TNF- $\alpha$  e a IL-6 e também regula negativamente a indução da síntese de óxido nítrico nos macrófagos. Uma vez que o óxido nítrico é um mediador da inflamação, a IL-10 pode atenuar a inflamação através desta via (Lalani, Bhol, & Ahmed, 1997).

Foi reportado que a regulação da produção de células T pela IL-10 não acelera a diabetes, mas que providencia uma proteção significativa da doença (Tsiavou et al., 2004). Verificou-se que uma baixa expressão de IL-10 no pâncreas medeia a ocorrência de DMT1 e que também está presente em crianças recentemente diagnosticadas com DMT1. Além disso, enquanto essas crianças crescem, os níveis de IL-10 vão diminuindo ainda mais (Li et al., 2016).

Esta interleucina também está envolvida na obesidade. A produção de baixos níveis de IL-10 está associada a hiperglicemia e a DMT2. Foi reportado que a presença de uma Adenina na posição 1082 está relacionada com a baixa produção de IL-10 após a estimulação de células T *in vitro*, enquanto que uma Guanina na mesma posição está relacionada com uma alta síntese de IL-10. Foi então demonstrado que uma mutação de A/G na posição 1082 da região promotora do gene IL-10 está provavelmente associada à incidência de desenvolver DM (Saxena & Modi, 2014).

A indução desta citocina através de mecanismos como o aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico ou como a redução da adesão de células leucocitárias endoteliais pode contribuir para que a adiponectina exerça os seus efeitos anti-inflamatórios e cardioprotetores (Donath & Shoelson, 2011).

### **3.8. MCP-1**

Trata-se de uma quimiocina responsável pelo recrutamento de células mononucleares para o local de inflamação, principalmente monócitos e linfócitos T, e é expressa e secretada pelo tecido adiposo (Musi & Guardado-Mendoza, 2014). Níveis elevados desta proteína foram encontrados em indivíduos com DMT1 e DMT2 (Panee, 2012).

A MCP-1 tem efeitos locais e endócrinos. A incubação de adipócitos cultivados com MCP-1 provoca uma diminuição da captação de glucose estimulada por insulina e a fosforilação em tirosina do recetor de insulina, sugerindo assim que a MCP-1 contribua diretamente para a resistência à insulina no tecido adiposo (Musi & Guardado-Mendoza, 2014).

A DMT1 é precedida de um processo chamado insulite. É uma infiltração inflamatória de células mononucleares, maioritariamente contendo monócitos e linfócitos T, para os ilhéus pancreáticos (Chen, Proost, Gysemans, Mathieu, & Eizirik, 2001).

Observou-se um aumento da expressão de MCP-1 em ratinhos NOD, que se encontrava ainda mais elevada com a idade e atingia o pico nas primeiras fases de insulite. Por essa mesma razão, acredita-se que a produção de MCP-1 possa contribuir para o recrutamento de monócitos para os ilhéus pancreáticos (Chen et al., 2001). Outro estudo semelhante também provou que a expressão de MCP-1 nos ilhéus e macrófagos exócrinos estava elevada nas fases tardias de diabetes nos ratinhos NOD (Panee, 2012).

Um dos mecanismos pelo qual as células mononucleares matam as células  $\beta$  pancreáticas é a produção local de citocinas, como a IL-1 $\beta$  e o INF- $\gamma$ . Um estudo realizado por Chen et al., (2001) detetou um aumento da expressão de MCP-1, sugerindo que as células  $\beta$  pancreáticas são um fonte importante da produção de MCP-1 numa fase inicial de insulite. Quando os macrófagos são ativados, estes libertam IL-1 $\beta$  na periferia das células  $\beta$  pancreáticas, o que resulta na expressão e posterior libertação de MCP-1, estimulando assim a infiltração de células mononucleares. Esta infiltração vai libertar macrófagos, tornando este processo num ciclo progressivo de destruição de células  $\beta$  (Figura 5).



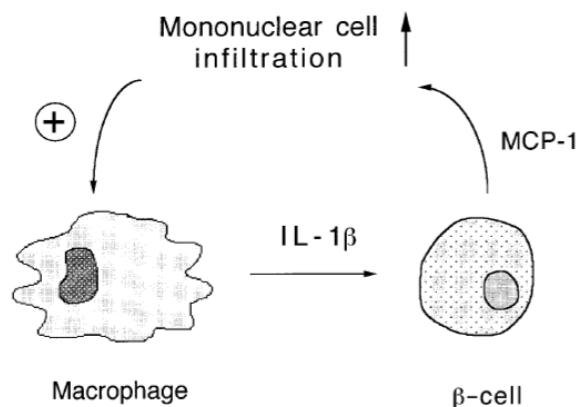


Figura 5: Papel proposto para a expressão de MCP-1 numa fase inicial de insulite (Chen et al., 2001).

Há uma correlação positiva entre os níveis de MCP-1 e o BMI, o que indica que esta proteína desempenha um papel importante na obesidade (Waheed, Khalil, & Fawzi, 2015). Um outro estudo, observou igualmente níveis mais elevados de MCP-1 em indivíduos com DMT2, concluindo que esta proteína está fortemente relacionada com a sensibilidade à insulina e o funcionamento das células  $\beta$  (Daniele et al., 2014).

Pode-se concluir que os níveis de MCP-1 são influenciados pelo estado glicémico do organismo e, quando elevados, podem contribuir não só para o começo mas também para o desenvolvimento de diabetes (Waheed et al., 2015).



#### 4. Conclusão

Há cada vez mais informação sobre os marcadores inflamatórios da Diabetes mellitus, o seu papel na regulação da inflamação e as suas implicações no desenvolvimento desta doença (Calle & Fernandez, 2012). A patogénese da diabetes é mediada por uma resposta inflamatória e imune provocada por certas citocinas, quimiocinas e interleucinas (Saxena & Modi, 2014).

As citocinas trabalham em conjunto para estimular a produção de proteínas de fase aguda. Por exemplo, os efeitos da IL-6 na síntese da CRP dependem da sua interação com a IL-1. O que se sugere é que as reações inflamatórias não dependem apenas de um mediador, mas sim da interação de vários (Spranger et al., 2003).

A CRP é considerada um dos biomarcadores epidemiológicos mais bem estudados na pré-diabetes, diabetes e nas doenças cardiovasculares associadas à DMT2 (Grossmann et al., 2015). Os níveis plasmáticos de hsCRP servem como um preditor independente de futuros riscos cardiovasculares, mesmo em indivíduos saudáveis. Na obesidade esta correlação é menor, mas existe (Freeman et al., 2002). As citocinas pró-inflamatórias, IL-6 e TNF- $\alpha$ , aumentam a expressão de CRP e vários estudos descreveram importantes correlações entre um aumento dos níveis plasmáticos de CRP e de TNF- $\alpha$ , e um maior risco de CVD e de Diabetes mellitus (Liu et al., 2016). Um aumento dos níveis de adiponectina está relacionado com uma sensibilidade à insulina e com um menor risco de CVD. Há um consenso de que a perda de peso está associada a uma diminuição de CRP e de TNF- $\alpha$  e a um aumento da concentração de adiponectina (Calle & Fernandez, 2012).

As concentrações plasmáticas de TNF- $\alpha$  encontram-se elevadas em indivíduos obesos e com diabetes. Este fator provoca uma diminuição da atividade da tirosina quinase em indivíduos com resistência à insulina, é responsável pelo aumento da expressão dos genes que codificam a IL-6 e a MCP-1 e contribui para a progressão da aterosclerose. As suas concentrações também foram correlacionadas positivamente com níveis elevados de triglicéridos no plasma e com insuficiência cardíaca (Calle & Fernandez, 2012).

Os níveis plasmáticos da adiponectina encontram-se reduzidas em indivíduos obesos, com CVD e Diabetes mellitus (Calle & Fernandez, 2012). Põe-se a hipótese de que altos níveis de adiponectina possam contribuir, direta ou indiretamente, para o atraso e/ou prevenção da CVD e DMT2 (Lim et al., 2014).

Altas concentrações de IL-1 $\beta$  estão relacionadas com a DMT1 e a DMT2 (Böni-Schnetzler et al., 2008). Esta citocina pró-inflamatória inibe o funcionamento das células  $\beta$  pancreáticas e promove a apoptose celular (Banerjee & Saxena, 2012). A IL-1 $\beta$  induz a expressão do IL-1Ra e reflete a resposta do organismo para contrabalançar o aumento da atividade da IL-1 $\beta$  (Donath & Shoelson, 2011). Acredita-se que um equilíbrio entre o IL-1Ra e a IL-1 $\beta$  melhore o funcionamento das células  $\beta$  e o controlo glicémico em indivíduos com diabetes (Banerjee & Saxena, 2012).

A IL-2 é uma potente citocina pró-inflamatória que exerce efeitos importantes na biologia das células Treg e, portanto, na homeostase da resposta imune (Vargas et al., 2015). O seu papel na DM ainda não é bem conhecido devido à complexidade dos seus mecanismos e ao facto de as conclusões a que se chegaram serem apenas suportadas por estudos em animais (Ferjani et al., 2016).

Os níveis de IL-6 encontram-se elevados na DMT2 e parecem já estar assim alguns anos antes do início da doença, ou seja, a IL-6 também pode ser preditora da diabetes (Kristiansen & Mandrup-poulsen, 2005). Na DMT1 os estudos são mais controversos, mas a sua concentração parece também estar mais elevada (Van Belle et al., 2014). Os seus níveis aumentam ainda mais quanto pior for o controlo da glucose (Mirza et al., 2012).

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória cuja concentração se encontra diminuída na DMT1 e na DMT2 (Speretta et al., 2014). Ela inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, o TNF- $\alpha$  e a IL-6 (Lalani et al., 1997). Esta interleucina não acelera a diabetes mas providencia uma proteção significativa da doença (Tsiavou et al., 2004).

A MCP-1 é uma proteína expressa e secretada por adipócitos, que está envolvida no recrutamento e ativação de monócitos e leucócitos T no tecido adiposo e na indução da resistência à insulina sistêmica, verificando-se que os seus níveis se encontram elevados em indivíduos com DMT1 e DMT2 (Waheed et al., 2015).

Assim, conclui-se que na Diabetes mellitus se verifica um aumento da concentração de CRP no organismo, de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e MCP-1) e uma diminuição de citocinas anti-inflamatórias (adiponectina e IL-10). O papel da IL-2 como citocina pró ou anti-inflamatória na diabetes ainda não foi suficientemente comprovado. Embora ainda não haja um consenso no mecanismo da resposta inflamatória desta doença, não há como negar que a inflamação está efetivamente presente. As concentrações destas citocinas podem servir como marcadores da inflamação da Diabetes mellitus e ajudar na detecção precoce e intervenção das suas complicações.



## 5. Referências Bibliográficas

- Ali, S., Khan, M. A., & Khan, M. A. (2015). CRP, an inflammatory biomarker in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Postgraduate Medical Institute*, 29(1), 18–23.
- Ascaso, J. F. (2013). Diabetes mellitus tipo 2: nuevos tratamientos. *Medicina Clínica*, 143(3), 117–123. <http://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.05.041>
- Banerjee, M., & Saxena, M. (2012). Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: Role in Type 2 Diabetes. *Clinica Chimica Acta*, 413(15–16), 1163–1170. <http://doi.org/10.1016/j.cca.2012.03.021>
- Belchetz, P. e Hammond, P. (2003). Diabetes and endocrinology. Britain: *Mosby*. 7-18.
- Blair, M. (2016). Diabetes Mellitus Review. *Urologic Nursing*, 36(1), 27–36. <http://doi.org/10.7257/1053-816X.2016.36.1.27>
- Böni-Schnetzler, M., Thorne, J., Parnaud, G., Marselli, L., Ehses, J. A., Kerr-Conte, J., ... Donath, M. Y. (2008). Increased interleukin (IL)-1 $\beta$  messenger ribonucleic acid expression in  $\beta$ -cells of individuals with type 2 diabetes and regulation of IL-1 $\beta$  in human islets by glucose and autostimulation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(10), 4065–4074. <http://doi.org/10.1210/jc.2008-0396>
- Buraczynska, M., Zukowski, P., Drop, B., Baranowicz-Gaszczyk, I., & Ksiazek, A. (2015). Effect of G(-174)C polymorphism in interleukin-6 gene on cardiovascular disease in type 2 diabetes patients. *Cytokine*, 79, 7–11. <http://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.12.004>
- Calle, M. C., & Fernandez, M. L. (2012). Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes and Metabolism*, 38(3), 183–191. <http://doi.org/10.1016/j.diabet.2011.11.006>
- Canivell, S., & Gomis, R. (2014). Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. *Autoimmunity Reviews*, 13(4–5), 403–407. <http://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.020>
- Chen, M. C., Proost, P., Gysemans, C., Mathieu, C., & Eizirik, D. L. (2001). Monocyte chemoattractant protein-1 is expressed in pancreatic islets from prediabetic NOD mice and in interleukin-1 $\beta$ -exposed human and rat islet cells. *Diabetologia*, 44(3), 325–332. <http://doi.org/10.1007/s001250051622>

- Chistiakov, D. A., Voronova, N. V., & Chistiakov, P. A. (2008). The crucial role of IL-2/IL-2RA-mediated immune regulation in the pathogenesis of type 1 diabetes, an evidence coming from genetic and animal model studies. *Immunology Letters*, 118(1), 1–5. <http://doi.org/10.1016/j.imlet.2008.03.002>
- Clements, J. N., & Pharm, D. (2016). Insulin glargine 300 units/mL: A new basal insulin product for diabetes mellitus. *American Society of Health-System Pharmacists*, 73(6), 359–366. <http://doi.org/10.2146/ajhp150174>
- Daniele, G., Guardado Mendoza, R., Winnier, D., Fiorentino, T. V., Pengou, Z., Cornell, J., ... Folli, F. (2014). The inflammatory status score including IL-6, TNF- $\alpha$ , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetologica*, 51(1), 123–131. <http://doi.org/10.1007/s00592-013-0543-1>
- Donath, M. Y., & Shoelson, S. E. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature Reviews. Immunology*, 11(2), 98–107. <http://doi.org/10.1038/nri2925>
- Ferjani, Z., Bouzid, D., Fourati, H., Fakhfakh, R., Kammoun, T., Hachicha, M., ... Masmoudi, H. (2016). Association between the IL2RA polymorphism and type 1 diabetes risk: Family based association study. *Meta Gene*, 1–5. <http://doi.org/10.1016/j.mgene.2016.08.006>
- Fève, B., & Bastard, J.-P. (2009). The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews. Endocrinology*, 5, 305–311. <http://doi.org/10.1038/nrendo.2011.138>
- Freeman, D. J., Norrie, J., Caslake, M. J., Gaw, A., Ford, I., Lowe, G. D. O., ... Sattar, N. (2002). C-Reactive Protein Is an Independent Predictor of Risk for the Development of Diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes*, 51(5), 1596–1600. <http://doi.org/10.2337/diabetes.51.5.1596>
- Gómez Gerique JA. (2012). Proteína C reactiva como marcador de inflamación. *Programa de Formación Continuada a Distancia 2010 (AEFA), Tema 1*, 1–25.



- Grossmannm, V., Schmitt, V. H., Zeller, T., Panova-Noeva, M., Schulz, A., Laubert-Reh, D., ... Wild, P. S. (2015). Profile of the immune and inflammatory response in individuals with prediabetes and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 38(7), 1356–1364. <http://doi.org/10.2337/dc14-3008>
- Hartemann, A., & Bourron, O. (2012). Interleukin-2 and type 1 diabetes: New therapeutic perspectives. *Diabetes and Metabolism*, 38(5), 387–391. <http://doi.org/10.1016/j.diabet.2012.05.006>
- He, Z.-X., Zhou, Z.-W., Yang, Y., Yang, T., Pan, S.-Y., Qiu, J.-X., & Zhou, S.-F. (2015). A Perspective Overview of clinically approved oral antidiabetic agents for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 42(2), 125–38. <http://doi.org/10.1111/1440-1681.12332>
- Herder, C., Dalmás, E., Böni-Schnetzler, M., & Donath, M. Y. (2015). The IL-1 Pathway in Type 2 Diabetes and Cardiovascular Complications. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 26(10), 551–563. <http://doi.org/10.1016/j.tem.2015.08.001>
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860–867. <http://doi.org/10.1038/nature05485>
- Hulme, M. A., Wasserfall, C. H., Atkinson, M. A., & Brusko, T. M. (2012). Central role for interleukin-2 in type 1 diabetes. *Diabetes*, 61(1), 14–22. <http://doi.org/10.2337/db11-1213>
- International Diabetes Federation*. Disponível em: <http://www.idf.org/>. Acesso em: 26 de Outubro de 2016.
- Jurjus, A., Eid, A., Al Kattar, S., Zeenny, M. N., Gerges-Geagea, A., Haydar, H., ... Jurjus, R. A. (2016). Inflammatory bowel disease, colorectal cancer and type 2 diabetes mellitus: The links. *BBA Clinical*, 5, 16–24. <http://doi.org/10.1016/j.bbacli.2015.11.002>

- Katharina, S. W., Nowotny, B., Strassburger, K., Pacini, G., Mussig, K., Szendroedi, J., ... Roden, M. (2015). The role of markers of low-grade inflammation for the early time course of glycemic control, glucose disappearance rate, and  $\beta$ -Cell function in recently diagnosed type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 38(9), 1758–1767. <http://doi.org/10.2337/dc15-0169>
- Kristiansen, O. P., & Mandrup-poulsen, T. (2005). IL-6 and Diabetes: The Good, the Bad, or the Indifferent? *Diabetes*, 54(December).
- Lalani, I., Bhol, K., & Ahmed, A. R. (1997). Interleukin-10: biology, role in inflammation and autoimmunity. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 79(6), 469–83. [http://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)63052-9](http://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)63052-9)
- Ley, S. H., Korat, A. V. A., Sun, Q., Tobias, D. K., Zhang, C., Qi, L., ... Hu, F. B. (2016). Contribution of the nurses' health studies to uncovering risk factors for type 2 diabetes: diet, lifestyle, biomarkers, and genetics. *American Journal of Public Health*, 106(9), 1624–1630. <http://doi.org/10.2105/AJPH.2016.303314>
- Li, C., Zhang, L., Chen, Y., Lin, X., & Li, T. (2016). Protective role of adenovirus vector-mediated interleukin-10 gene therapy on endogenous islet  $\beta$ -cells in recent-onset type 1 diabetes in NOD mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 11(5), 1625–1632. <http://doi.org/10.3892/etm.2016.3169>
- Lim, S., Quon, M. J., & Koh, K. K. (2014). Modulation of adiponectin as a potential therapeutic strategy. *Atherosclerosis*, 233(2), 721–728. <http://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.051>
- Liu, C., Feng, X., Li, Q., Wang, Y., Li, Q., & Hua, M. (2016). Adiponectin, TNF- $\alpha$  and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*, 86, 100–109. <http://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.06.028>
- Maedler, K., Sergeev, P., Ehses, J. a, Mathe, Z., Bosco, D., Berney, T., ... Donath, M. Y. (2004). Leptin modulates  $\beta$  cell expression of IL-1 receptor antagonist and release of IL-1 $\beta$  in human islets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21), 8138–8143. <http://doi.org/10.1073/pnas.0305683101>

- Mesa, J., & Dalama, B. (2016). New Oral Hypoglycemic Agents and Cardiovascular Risk . Crossing the Metabolic Border. *Revista Española de Cardiología*. <http://doi.org/10.1016/j.rec.2016.07.008>
- Mirza, S., Hossain, M., Mathews, C., Martinez, P., Pino, P., Gay, J. L., ... Fisher-Hoch, S. P. (2012). Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF-alpha, IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: A cross-sectional study. *Cytokine*, 57(1), 136–142. <http://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.09.029>
- Moller, D. E. (2000). Potential Role of TNF- $\alpha$  in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 11(6), 212–217. [http://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00272-1](http://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00272-1)
- Musi, N., & Guardado-Mendoza, R. (2014). Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(6), 2548–2556. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-408134-5.00014-7>
- Panee, J. (2012). Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine*, 60(1), 1–12. <http://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.06.018>
- Rao, X., Zhong, J., & Sun, Q. (2014). The heterogenic properties of monocytes/macrophages and neutrophils in inflammatory response in diabetes. *Life Sciences*, 116(2), 59–66. <http://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.09.015>
- Saxena, M., & Modi, D. (2014). Inflammation and Diabetes. *Interdisciplinary Journal of Microinflammation*, 1(1). <http://doi.org/10.4172/ijm.1000110>
- Scheen, A. J., Esser, N., & Paquot, N. (2015). Antidiabetic agents: Potential anti-inflammatory activity beyond glucose control. *Diabetes & Metabolism*, 41(3), 183–194. <http://doi.org/10.1016/j.diabet.2015.02.003>
- Speretta, G. F. F., Leite, R. D., & Duarte, A. C. G. de O. (2014). Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10. *Revista HUPE*, 13(1), 61–69. <http://doi.org/10.12957/rhupe.2014.9807>

- Spranger, J., Kroke, A., Mo, M., Hoffmann, K., & Bergmann, M. M. (2003). Inflammatory Cytokines and the Risk to Develop Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 52(March), 812–817.
- Tsiavou, A., Hatzigelaki, E., Chaidaroglou, A., Manginas, A., Koniavitou, K., Degiannis, D., & Raptis, S. A. (2004). TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-10, IL-6, Gene Polymorphisms in Latent Autoimmune Diabetes of Adults (LADA) and Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Immunology*, 24(6), 591–9. <http://doi.org/10.1007/s10875-004-6239-0>
- Van Belle, T. L., Pagni, P. P., Liao, J., Sachithanatham, S., Dave, A., Bel Hani, A., ... von Herrath, M. G. (2014). Beta-cell specific production of IL6 in conjunction with a mainly intracellular but not mainly surface viral protein causes diabetes. *Journal of Autoimmunity*, 55(1), 24–32. <http://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.02.002>
- Vargas, R., Ryder, E., Diez-Ewald, M., Mosquera, J., Durán, A., Valero, N., ... Fernández, E. (2015). Increased C-reactive protein and decreased Interleukin-2 content in serum from obese individuals with or without insulin resistance: Associations with leukocyte count and insulin and adiponectin content. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*. <http://doi.org/10.1016/j.dsx.2015.09.007>
- Vidal, H., Capeau, J., Bastard, J., Maachi, M., Lagathu, C., Kim, M. J., ... Fève, B. (2006). Recent advances in the relationship between obesity , inflammation , and insulin resistance. *European Cytokine Network*, 17(1), 4–12.
- Waheed, H. J., Khalil, M., & Fawzi, S. (2015). Evaluation of Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) in Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 6(5), 791–797.
- Wu, Y., Ding, Y., Tanaka, Y., & Zhang, W. (2014). Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *International Journal of Medical Sciences*, 11(11), 1185–1200. <http://doi.org/10.7150/ijms.10001>

Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T., & Davies, M. J. (2015). Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. *Postgrad Med J*, 92, 63–69. <http://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133281>